



УДК 577.113.6

# ГЕНОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ

© 2025 г. И. Б. Козлов\*, #, О. А. Герасимов\*, О. Ю. Домашева\*, Л. Г. Бушина\*,  
Л. А. Сафонова\*, В. В. Макаров\*, В. С. Юдин\*

\* ФГБУ “ЦСП” ФМБА России, Россия, 119121 Москва, ул. Погодинская, 10/1

Поступила в редакцию 04.10.2024 г.

После доработки 27.10.2024 г.

Принята к публикации 28.10.2024 г.

Разработка лекарственных средств, структура которых напоминает структуру естественных компонентов живого организма или полностью им идентична, на сегодняшний день представляет собой перспективное направление, вызывающее огромный интерес среди ученых. Получение синтетических аналогов нукleinовых кислот стало возможным благодаря активному развитию олигонуклеотидного синтеза в 1980-х гг. и последующим разработкам в области химической модификации нуклеотидов, что предоставило возможность изменять свойства нукleinовых кислот и повышать их стабильность. Накопленный мировой опыт способствовал разработке лекарственных препаратов на основе синтетических олигонуклеотидов. Начиная с 1998 г., относительно небольшое число препаратов получило одобрение регулирующих органов разных стран на применение в клинической практике, большинство из них направлено на лечение редких (орфанных) заболеваний. На сегодняшний день разрешены к применению 20 терапевтических препаратов на основе синтетических олигонуклеотидов, из которых один препарат – МИР 19® – разработан в России. В данном обзоре описаны все одобренные (по состоянию на 2024 г.) терапевтические препараты на основе синтетических олигонуклеотидов, а также рассмотрены и систематизированы актуальные в настоящий момент знания о перспективных видах терапевтических олигонуклеотидов с разными механизмами взаимодействия с мишенью.

**Ключевые слова:** генотерапевтические препараты, терапевтические олигонуклеотиды, siRNK, ASO, CpG-олигонуклеотиды

**DOI:** 10.31857/S0132342325020022, **EDN:** LDAHTD

## СОДЕРЖАНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ	190
2. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ГЕНОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ	191
3. ВИДЫ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ И МЕХАНИЗМЫ ИХ ДЕЙСТВИЯ	193
3.1. Антисмысловые олигонуклеотиды	194
3.2. Малые интерферирующие РНК	196
3.3. Малые активирующие РНК	197
3.4. CpG-олигонуклеотиды	198
3.5. Аптамеры	198
3.6. ДНКзимы	199
3.7. Ограничения и проблемы, связанные с применением терапевтических олигонуклеотидов	200
4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	200
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	201

Сокращения: пДК – плазмоцитоидные дендритные клетки; СМА – спинальная мышечная атрофия; СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита; ЦМВ – цитомегаловирус; А – аденоzin; ADAR – эндогенные аденоzinдезаминазы; anti-miR – анти-микроРНК; arРНК – ASO – антисмысловой олигонуклеотид; CpG-ON – CpG-олигонуклеотид; I – инозин; G – гуанозин; ON – олигонуклеотид; saРНК – малая активирующая РНК (small activating RNA); SELEX – систематическая эволюция лигандов при экспоненциальном обогащении; siРНК – малая интерферирующая РНК (small interfering RNA); SSO – олигонуклеотиды, переключающие сплайсинг.

# Автор для связи: (тел.: +7 (495) 540-61-71 (доб. 4558); эл. почта: IKozlov@cspfmba.ru).

## 1. ВВЕДЕНИЕ

Открытие нуклеиновых кислот вызвало большой интерес научного сообщества: к середине 1940-х гг. были накоплены данные о составе веществ данного класса, а также их функциях в биологических системах. Однако связь между структурой нуклеиновых кислот и принципами их функционирования была впервые показана в работе Watson и Crick [1], опубликованной в 1953 г.

Вскоре результаты исследований свойств нуклеиновых кислот и их структуры, а также попытки воссоздать биополимеры искусственным способом с помощью методов химического присоединения нуклеотида к другому нуклеотиду привели к возникновению нового направления в органическом синтезе. Примерно через 2 года после того, как Watson и Crick подтвердили двухцепочечную структуру ДНК (дДНК), Mihelson и Todd опубликовали данные о результатах синтеза динуклеотида [2]. В области олигонуклеотидного синтеза более чем за 65 лет исследований был создан широкий спектр методов и подходов присоединения нуклеотидов для формирования биополимера [3–7]. Важным условием развития этой области были автоматизация процесса и разработка первого автоматического ДНК-синтезатора (ABI, Applied Biosystems Inc.), работающего по фосфорамидитному методу.

Применение автоматических синтезаторов значительно упростило и ускорило процесс синтеза олигонуклеотидов (ОН), а возникший вслед за этим повышенный интерес со стороны биологов привел к расширению спектра применения синтетических ОН. Среди направлений применения ОН можно выделить, например, сборку генов или целых геномов [8, 9], ПЦР [10], секвенирование [11–13], редактирование геномов с помощью технологии CRISPR/Cas9 [14, 15], разработку фармацевтических субстанций [16–18]. Во многих случаях для решения конкретных задач требуются не только нативные ОН, но и ОН, имеющие в своей структуре модификации, которые приводят к изменению их свойств.

При рассмотрении типов ОН следует учитывать положение модификации. Она может располагаться как в концевой части ОН, так и внутри последовательности. К первой группе можно отнести модификации последовательности с по-

мощью различных способов преобразования концевых 3'- и 5'-гидроксильных групп путем присоединения или замещения иными функциональными группами (например, фосфатная, азидо-, иодо-, алкиногруппа). Так, например, наличие модификаций на концевых участках ОН позволяет использовать его для процесса конъюгации с аминокислотами в составе пептидов и белковых молекул [19–22], флуорофорами и гасителями флуоресценции [23], пространственными спейсерами или векторами таргетной доставки [24–26].

Потребность в изменении биологических свойств нативного ОН (например, в повышении аффинности к мишениям и устойчивости к нуклеазам) привела к необходимости трансформации внутренней части последовательности. Подобные изменения стали возможными благодаря разработке нуклеотидов с неестественной структурой, которая формируется в ходе химической модификации азотистых оснований, межнуклеотидной связи и рибозного цикла. Встраивание в ОН-последовательность нуклеотидов с неестественной структурой позволило повысить их стабильность, что, в свою очередь, открыло перспективы применения синтетических ОН в качестве фармацевтических субстанций или их компонентов.

## 2. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ГЕНОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

На сегодняшний день основные стратегии применения генотерапевтических лекарственных средств направлены на терапию редких (орфанных) заболеваний, которыми, по сравнению с другими заболеваниями, страдает небольшой процент населения (не более 10 случаев на 100 тыс. населения) [27]. По разным данным в мире насчитывается 300–350 млн пациентов с редкими заболеваниями, 80% таких случаев обусловлены наследственными мутациями генов, в то время как причиной оставшихся 20% выступают инфекционные и аутоиммунные заболевания, в том числе вызванные воздействием факторов окружающей среды [28]. По данным Министерства здравоохранения Российской Федерации на 2024 г., в Список редких (орфанных) заболеваний внесено 293 наименования [29]. Одобренные в настоящий момент терапевтические препараты на основе ОН представлены в табл. 1.

**Таблица 1.** Терапевтические препараты на основе синтетических олигонуклеотидов, получившие одобрение регулирующих органов в период с 1998 г. по настоящее время

№	Международное непатентованное название	Торговое название	Компания-разработчик	Механизм действия	Тип молекулы	Модификации	Организация, год одобрения	Мишень	Заболевание	Способ введения	Доза	Ссылка
1	Fomivirsen	Vitravene®	Ionis Pharmaceuticals, Novartis	Блокирование трансляции	ASO	PS	FDA, 1998 EMA, 1999	мРНК CMV IE2	Цитомегало-вирусный ретинит	Интратретально	300 мкг каждые 4 недели	[106]
2	Pegaptanib	Macugen®	OSI Pharmaceuticals	Связывание с белком и его блокирование	Антагомер (PEG)	2'-F, 2'-OMe	FDA, 2004 EMA, 2006 PMDA, 2008	VEGFR165 (белок)	Неоваскулярная возрастная макулярная дегенерация	Интратретально	0,3 мкг каждые 6 недель	[107]
3	Mipomersen	Kynamro®	Kastle Therapeutics, Ionis Pharmaceuticals, Genzyme	Деградация РНКазы Н	ASO (гэмпер)	PS, 2'-MOE	FDA, 2013	мРНК ApoB-100	Гомозиготная семейная гиперхолестеринемия	Подкожно	200 мг раз в неделю	[108]
4	Eteplirsen	Exondys 51®	Sarepta Therapeutics	Модуляция сплайсинга	ASO (SSO)	PMO	FDA, 2016	пре-мРНК дистрофина (DMD)	Мышечная дистрофия Дюшенна	Внутривенно	30 мг/кг раз в неделю	[109]
5	Nusinersen	Spinraza®	Ionis Pharmaceuticals, Biogen	Модуляция сплайсинга	ASO (SSO)	PS, 2'-MOE	FDA, 2016 EMA, 2017 PMDA, 2017	пре-мРНК SMN2	Спинальная мышечная атрофия	Внутривенно	12,5 мг раз в 4 месяца	[36]
6	CpG1018 (в качестве альтернативы вакцине)	Heplisav-B®	Dynavax Technologies Corp.	Агонист Toll-подобного рецептора 9 (TLR9)	СрГ-олигонуклеотид	PS	FDA, 2017 EMA, 2021	TLR9 (белок)	Вирусный гепатит В (HBV)	Внутри-мышечно	0,5 млн двукратно с интервалом 1 месяца	[110]
7	Inotersen	Tegsedy®	Akcea Therapeutics	Деградация РНКазы Н	ASO (гэмпер)	PS, 2'-MOE	FDA, 2018 EMA, 2018	мРНК TTR	Полинеуропатия, вызванная наследственным транспортин-опосредованым (hATTR) амилоидозом	Подкожно	300 мг раз в неделю	[111]
8	Patisiran	Oriptatto®	Alnylam Pharmaceuticals	РНК-интерференция	siРНК (LNP)	2'-OMe	FDA, 2018 EMA, 2018 PMDA, 2019	мРНК TTR	Полинеуропатия, вызванная наследственным транспортин-опосредованым (hATTR) амилоидозом	Внутривенно	0,3 мг/кг раз в 3 недели	[58]
9	Volanesorsen	Waylivra®	Akcea Therapeutics	Деградация РНКазы Н	ASO (гэмпер)	PS, 2'-MOE	EMA, 2019	мРНК ApoCIII	Синдром семейной хиломикронемии	Подкожно	285 мг раз в неделю	[112]

Таблица 1. (Продолжение)

№	Международное непатентован- ное название	Торговое название	Компания- разработчик	Механизм действия	Тип молекулы	Модификации	Организация, год одобрения	Мишень	Заболевание	Способ введения	Доза	Ссылка
10	Givosiran	Givlaari®	Alnylam Pharmaceuticals	РНК- интерференция	siРНК (GalNAc)	PS (частично), 2'-ОMe, 2'-F	FDA, 2019 EMA, 2020 PMDA, 2021	мРНК ALAS1	Острая печеночная порфирия	Подкожно	2,5 мг/кг раз в месяц	[59]
11	Golodirsen	Vyondys 53 ®	Sarepta Therapeutics	Модуляция сплайсинга	ASO (SSO)	PMO	FDA, 2019	пре-мРНК дистрофина (DMD)	Мышечная дистро- фия Дюшенна	Внутривенно	30 мг/кг раз в неделю	[113]
12	Viltolarsen	Viltpto®	NS Pharma	Модуляция сплайсинга	ASO (SSO)	PMO	FDA, 2020 PMDA, 2020	пре-мРНК дистрофина (DMD)	Мышечная дистро- фия Дюшенна	Внутривенно	80 мг/кг раз в неделю	[114]
13	Lumasiran	Oxlumo®	Alnylam Pharmaceuticals	РНК- интерференция	siРНК (GalNAc)	PS (частично), 2'-ОMe, 2'-F	FDA, 2020 EMA, 2020	мРНК HAO1	Первичная ги- пероксалурия 1-го типа (ПГ1)	Подкожно	3 или 6 мг/кг, частота дозирова- ния зависит от веса и возраста	[115]
14	Inclisiran	Leqvio®	Novartis, Alnylam Pharmaceuticals	РНК- интерференция	siРНК (GalNAc)	PS (частично), 2'-ОMe, 2'-F	EMA, 2020 FDA, 2021	мРНК PCSK9	Гетерозиготная семейная гиперхолестери- немия	Подкожно	284 мг/кг вводится первона- чально, повторное введение через 3 месяца, затем каждые 6 месяцев	[116]
15	Casimersen	Amondys 45®	Sarepta Therapeutics	Модуляция сплайсинга	ASO (SSO)	PMO	FDA, 2021	пре-мРНК дистрофина (DMD)	Мышечная дистро- фия Дюшенна	Внутривенно	30 мг/кг раз в неделю	[117]
16	Vutrisiran	Amvuttra®	Alnylam Pharmaceuticals	РНК- интерференция	siРНК (GalNAc)	PS (частично), 2'-ОMe, 2'-F	FDA, 2022	мРНК TTR	Полинейропатия, вызванная наслед- ственным транс- тиреин-онпредо- ванным (hATTR) амилоидозом	Подкожно	Общая доза 25 мг, 1 раз в три месяца	[118]

**Таблица 1. (Окончание)**

№	Международное непатентован- ное название	Торговое название	Компания- разработчик	Механизм действия	Тип молекулы	Модификации	Организация, год одобрения	Мишень	Заболевание	Способ введения	Доза	Ссылка
19	siRk-12	MIR 19®	ФГБУ ГНИЦ “Институт иммунологии” ФМБА России	РНК- интерференция	siРНК	LNA	Минздрав РФ, 2021	РНК- зависимая РНК- полимераза вируса SARS-CoV-2	COVID-19	Ингаляци- онно	Суточная доза 3,7 мг (две инга- ляции) в течение 14 дней	[60]
20	Tofersen	Qalsody®	Ionis Pharmaceuticals, Biogen	Блокирование трансляции	ASO	PS (частично), 2'-MOE	FDA, 2023 EMA, 2024	мРНК SOD1	Боковой амиотро- фический склероз (ALS)	Интратекаль- но	По 100 мг (15 мл) 3 раза в течение 14 дней, затем 1 доза каждые 28 дней	[119]

Примечание: PS – фосфатибонная межнуклеотидная связь; 2'-F – 2'-фтор-РНК; 2'-OMe – 2'-O-метил-РНК; 2'-MOE – 2'-O-метоксиэтил-РНК; РМО – морфолинонуклеотиды; LNA (Locked nucleic acids) – замкнутые нуклеиновые кислоты; FDA (Food and Drug Administration) – Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств, США; EMA (European Medicines Agency) – Европейское агентство лекарственных средств, Нидерланды; PMDA (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency) – Агентство по фармацевтике и медицинскому оборудованию, Япо-  
ния.

Негативная статистика исходов редких заболеваний стимулирует развитие сферы разработки терапевтических средств, в том числе разработки препаратов на основе синтетических ON. Для поддержки этой тенденции необходимо развивать глубокое научное понимание механизмов возникновения каждого орфанного заболевания, а также обеспечивать реализацию мер поддержки со стороны государства.

Терапевтические нуклеиновые кислоты в зависимости от механизма действия вызывают снижение, повышение или восстановление уровня экспрессии генов. Воздействуя на РНК клетки, ON-препараты подавляют трансляцию, регулируют экспрессию микроРНК, комплементарных определенным мРНК [30], подавляют транскрипционную активность путем воздействия на факторы транскрипции [31]. Существуют также средства, механизм действия которых основан на взаимодействии синтетических ON с клеточными рецепторами [32]. Основные механизмы действия терапевтических ON представлены в табл. 2, далее они будут описаны более подробно.

### 3. ВИДЫ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ И МЕХАНИЗМЫ ИХ ДЕЙСТВИЯ

Концепция использования нуклеиновых кислот в качестве платформы для разработки лекарственных средств не нова. Начало ее активной реализации приходится на конец 1980-х гг., вскоре после появления эффективных автоматизированных методов синтеза олигомеров, и связано с растущим интересом к разработке способов модуляции экспрессии генов. Большинство синтетических ON взаимодействует с молекулами-мишениями путем уотсон-криковского спаривания оснований – на этом свойстве базируется стратегия разработки препаратов на основе ON.

Определив мишень, относительно просто подобрать комплементарные ON-последовательности, провести их синтез и протестировать для оптимизации их свойств. Такой подход позволяет быстро (в течение нескольких недель) пройти путь от определения мишени до разработки кандидатного лекарственного средства и поэтому обладает важным преимуществом по сравнению с другими технологиями.

**Таблица 2.** Направления и механизмы действия терапевтических олигонуклеотидов

Направление действия	Механизм	Примеры молекул	Ссылки
Рекрутирование РНКазы Н	Н-опосредованное расщепление транскрипта	Гэпмеры	[33, 34]
Стерическая блокада	Вмешательство в работу посттранскрипционных РНК-связывающих элементов, например, модуляция сплайсинга и блокирование эндогенных siРНК	ASO 2-го и 3-го поколений, антагомиры	[40]
Связывание белков	Связывание белков-мишеней структурно-специфическим образом	Аптамеры	[78]
Врожденный иммунитет	Ингибиование экспрессии белка через деградацию мРНК, специфичную для мишени	Неметилированные CpG-содержащие ON	[64–66]
РНК-интерференция	Ингибиование экспрессии генов через деградацию мРНК, специфичную для мишени	siРНК, микроРНК	[52]
Рекрутирование эндогенных аденоzindezамина (ADAR)	Коррекция мутаций в транскриптах мРНК за счет дезаминирования аденоозина (A) до инозина (I) в дцРНК	арРНК	[42–44]

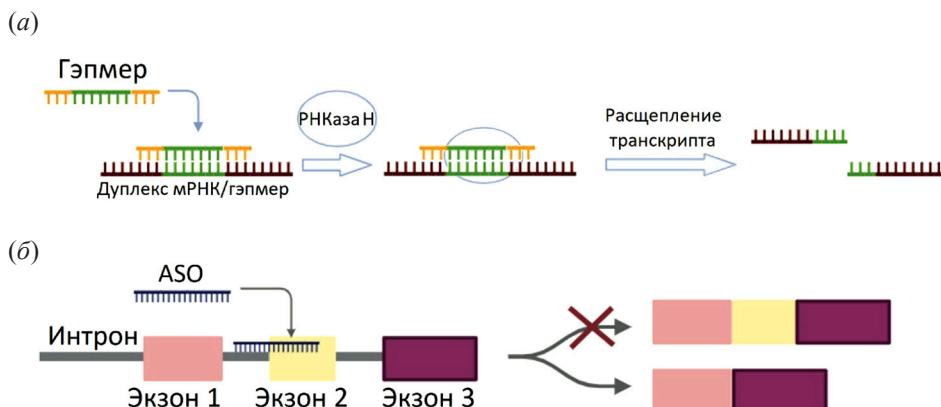
### 3.1. Антисмысловые олигонуклеотиды

Применение антисмысловых олигонуклеотидов (ASO) – одна из ведущих стратегий разработки терапевтических олигонуклеотидов. На долю ASO приходится ~65% всех разработок в области терапевтических ON. Механизм функционирования ASO основан на процессе рекрутирования РНКазы Н к месту гибридизации одноцепочечного ДНК-олигонуклеотида с комплементарным участком мРНК. Существуют две основные группы ASO, которые отличаются по механизму действия: ингибиторы экспрессии генов и модуляторы сплайсинга.

К первой группе ASO стоит отнести “гэпмеры”, состоящие из центрального ДНК-фрагмента, фланкированного с двух концов 2'-модифицированными рибонуклеотидами. Такие молекулы связываются с комплементарным фрагментом мРНК, рекрутируют РНКазу Н, активность которой приводит к деструкции нуклеиновой кислоты [33, 34]. Существует также альтернативный механизм (SSO, англ. Splice-switching oligonucleotide), в котором происходит сдвиг сайта сплай-

синга благодаря формированию стерического блока, что приводит к экспрессии измененных вариантов мРНК [33] (рис. 1). Первым препаратом на основе ASO, одобренным в 1998 г., был фомивирсен/Витравен (fomivirsen/Vitravene) (табл. 1), разработанный компанией Ionis Pharmaceuticals, Inc. (США), которая в дальнейшем передала лицензию на производство Novartis AG (Швейцария). Препарат направленно воздействует на последовательность РНК цитомегаловируса (ЦМВ), одобрен FDA в качестве средства для лечения ретинита, вызванного ЦМВ, у пациентов с ослабленным иммунитетом, включая больных с синдромом приобретенного иммунодефицита (СПИД) [35]. Среди группы ASO, ингибирующих экспрессию генов, четыре препарата одобрены FDA, 44 препарата находятся на II и III стадиях клинических испытаний.

К представителям второй группы ASO, вызывающих модуляцию сплайсинга, можно отнести пять препаратов, которые получили одобрение FDA, семь препаратов проходят II и III фазы клинических испытаний. Все эти препараты направлены на борьбу с редкими генетическими



**Рис. 1.** Механизм действия терапевтических нуклеиновых кислот: (а) – расщепление транскрипта, опосредованное взаимодействием РНКазы Н с дуплексом гэпмера и мРНК; (б) – модулирование процесса сдвига сайта сплайсинга за счет формирования стерического блока, опосредованного комплементарным связыванием ASO с пре-мРНК. Сайты связывания SSO часто выступают энхансерами или супрессорами сплайсинга, а двухцепочечная SSO-пре-мРНК может блокировать РНК–РНК или РНК–белковые взаимодействия, регулирующие процесс сплайсинга. Рисунок адаптирован из работы [105].

заболеваниями. Самый известный представитель этой группы – нусинерсен/Спинраза (*nusinersen/Spinraza®*), разработанный компанией Biogen Inc. (США), в 2016 г. ставший первым одобренным FDA препаратом для лечения спинальной мышечной атрофии (СМА) [36]. СМА сопровождается снижением содержания белка SMN (Survival Motor Neuron), вызванного мутациями в последовательности гена *SMN1* (в частности, делециями). У человека имеется вторая копия гена *SMN* – *SMN2*, однако экзон 7 гена *SMN2* неэффективно сплайсируется, в результате чего образуется укороченный белок SMNΔ7, который нестабилен и лишь частично функционален. ASO в составе препарата *Spinraza®* связывается с регуляторным элементом ISS-N1 (Intronic Splicing Silencer N1) в интроне 7 и вытесняет факторы сплайсинга, подавляющие его. Это приводит к сохранению экзона 7 в последовательности мРНК гена *SMN2*. Таким образом, препарат перенаправляет сплайсинг, восполняя дефицит белка SMN за счет образования полноразмерной мРНК [37].

ASO могут использоваться для блокировки связывания микроРНК с мРНК. МикроРНК – малые некодирующие РНК, открытые и описанные в 1993 г. учеными Ambros и Ruvkun, получившими за это исследование Нобелевскую премию в 2006 г. [38]. МикроРНК функционируют как посттранскриptionные регуляторы экспрессии генов. Они вызывают деградацию мРНК,

ингибируют трансляцию, тем самым снижая уровень экспрессии генов-мишеней. Одна последовательность микроРНК может воздействовать на целый ряд функционально связанных генов. Таким образом, изменение уровня экспрессии микроРНК может быть ассоциировано с развитием патогенных процессов, сопровождающих ряд заболеваний человека [39]. ON, осуществляющие блокировку эндогенных микроРНК за счет комплементарного спаривания с ними, известны как анти-микроРНК (*anti-miR*) или антагомиры [40]. Подобные соединения – потенциально перспективные инструменты воздействия на микроРНК, активно разрабатывающиеся мировыми фармацевтическими компаниями. Например, Ремларсен (*Remlarsen®*, MRG-201), предложенный компанией miRagen Therapeutics (США) для имитации активности молекулы микроРНК-29, которая снижает экспрессию коллагена и других белков, участвующих в рубцевании тканей [41]. Препарат *Remlarsen®* предназначен для лечения широкого спектра патогенных состояний, связанных с фибротическими процессами, и применяется в нескольких терапевтических областях, включая сердечно-сосудистую, офтальмологическую, респираторную и дерматологическую. К текущему моменту завершена II фаза клинических исследований данного препарата в качестве средства для лечения келоидов ([ClinicalTrials.gov: NCT03601052](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03601052)).

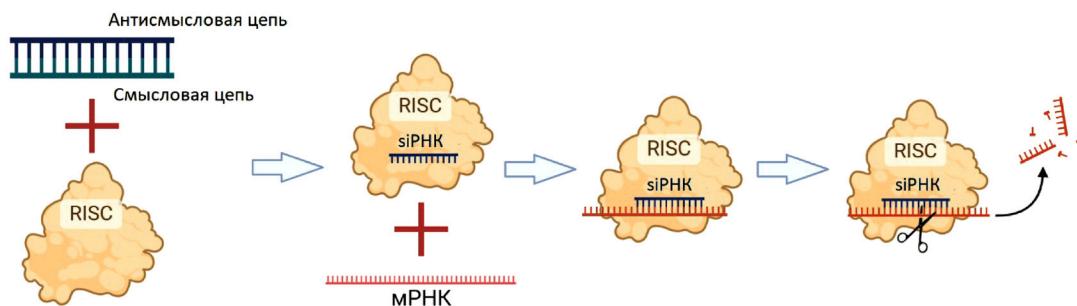
Для коррекции мутаций в транскриптах мРНК используют ASO, механизм действия которых основан на рекрутировании эндогенных аденоzindezамина (ADAR), действующих на РНК [42–44]. Семейство ферментов ADAR дезаминирует аденоzin (A) до инозина (I) в днРНК. Инозин во время трансляции распознается как гуанозин (G). Это важно, поскольку подавляющая часть генетических вариантов, встречающихся в ДНК человека, связанных с заболеванием, представляют собой точечные мутации, большинство эффектов которых можно обратить с помощью таких переходов. Ферменты ADAR направленно воздействуют только на двухцепочечные субстраты. Это дает возможность создавать ADAR-рекрутирующие ОН (арРНК), которые гибридизуются с целевой последовательностью и тем самым направляют ферментативную активность. Кроме того, рекрутирование эндогенных ферментов человека позволяет избежать потенциальных проблем, возникающих при использовании технологий редактирования нуклеиновых кислот, требующих применения экзогенных или бактериальных ферментов, таких как необходимость разработки системы доставки для преодоления биологических барьеров или наличие иммунотоксичности неприемлемого уровня. Управление процессом редактирования на уровне транскрипта через применение арРНК имеет некоторые преимущества для клинических приложений по сравнению с редактированием генома. Особенно важно то, что любое потенциальное нецелевое редактирование транскрипта не приводит к необратимым изменениям в геноме [45]. В настоящее время исследуются несколько различных подходов с использованием ОН различной длины с вклю-

чением или без включения химически модифицированных оснований [46]. В доклинических исследованиях олигонуклеотиды, рекрутирующие ADAR, использовались для восстановления каталитической активности  $\alpha$ -L-идуронидазы в первичных фибробластах, полученных от пациентов с синдромом Гурлера [43], а также для восстановления уровня содержания  $\alpha$ -1-антитрипсина за счет редактирования мутации PiZZ [44]. Клиническая разработка этого типа терапии еще не началась.

### 3.2. Малые интерферирующие РНК

Иным революционным методом подавления экспрессии гена считается метод, предложенный Fire и Mello в 1998 г. Учеными было установлено, что синтетическая РНК может вызывать эффективное подавление трансляции у *Caenorhabditis elegans* [47]. Этот процесс был назван РНК-интерференция, а Fire и Mello получили Нобелевскую премию в 2006 г. за открытие его механизма. Позже было показано, что использование не одноклеточных, а именно дуплексных РНК, предложенных в 2001 г. Tuschl и Elbashir, приводит к нокауту генов в клетках человека [48] (рис. 2).

Дуплексная РНК состоит из двух комплементарных цепочек РНК, каждая из которых выполняет свою роль. Смыловая (passenger/sense) цепь защищает направляющую (guide/antisense, антисмыловая) от деградации [49], комплементарная ей цепь отвечает за распознавание последовательности биологической РНК-мишени [50, 51]. Введение малой интерферирующей РНК (siРНК, small interfering RNA) в клетки млекопитающих приводит к ее включению в комплекс РНК-индукции сплай-



**Рис. 2.** Расщепление матричной РНК (мРНК) под действием комплекса РНК-индукированного сплайсинга (RISC) и siРНК посредством активации механизма РНК-интерференции.

синга (RISC), где она взаимодействует с белком Ago2 [52], обладающим свойством эффективно расщеплять связанные субстраты [53, 54], что приводит к денатурации дуплекса и деградации смысловой цепи. Комплекс Ago2/RНК представляет собой программируемый рибогликопротеин, в котором домен Ago2 защищает антисмысловую РНК от деградации, а домен РНК направляет комплекс к желаемой РНК-мишени и способствует эффективному распознаванию и расщеплению целевых РНК.

Решающий фактор, определяющий направление действия siРНК, – ее длина. Оптимальной длиной последовательностей siРНК считается 19–21 нт. Применение дцРНК длиной >30 нт приводит к индукции интерферона и иммунным реакциям через активацию Toll-подобных рецепторов (Toll-like receptor) [55] с последующим тотальным выключением генов и, в конечном итоге, к гибели клетки. Введение siРНК может оказывать неспецифические эффекты, вмешиваясь в экспрессию других мРНК, которые обладают частичной гомологией с целевой мРНК, приводя к сложностям при интерпретации экспериментальных данных. Такие эффекты потенциально могут свидетельствовать о неблагоприятном профиле безопасности препарата на основе siРНК [56, 57].

В 2018 г. патисиран/Онпаттро (patisiran/Onpattro<sup>®</sup>) стал первым представленным на рынке препаратом на основе siРНК [58]. Препарат разработан компанией Alnylam Pharmaceuticals (Нидерланды) для лечения редкого наследственного заболевания – амилоидной нейропатии. Его действие основано на подавлении синтеза мутантных вариантов белка транстиреина в печени.

Второй siРНК-препарат, разработанный компанией Alnylam Pharmaceuticals (Нидерланды) в 2019 г., гивосиран/Гивлаари (givosiran/Givlaari<sup>®</sup>), был одобрен для лечения острой печеночной порфирии – семейства редких генетических заболеваний, связанных с гипоморфными мутациями в генах, которые кодируют ферменты, участвующие в синтезе гема [59]. Мутации приводят к накоплению нейротоксичных промежуточных метаболитов, которые вызывают нейровисцеральные приступы и хронические проявления. Накопление токсичных метаболитов можно предотвратить путем ингибиования синтазы аминоловулиновой

кислоты – печеночного ферmenta, кодируемого геном *ALAS1*, который служит мишенью гивосирана.

Среди всех разрабатываемых лекарственных средств на основе терапевтических ON siРНК-препараты занимают второе место (после ASO) по числу исследований и разработок новых продуктов. По данным базы ClinicalTrials.gov, ~9 siРНК-препаратов проходят 15 клинических исследований II и III фаз.

Важно отдельно упомянуть противовирусный препарат МИР 19<sup>®</sup> на основе siРНК, разработанный в ГНЦ “Институт иммунологии” ФМБА России. В 2021 г. была опубликована статья, в которой описана наиболее эффективная siРНК siRk-12 против SARS-CoV-2 [60]. В дальнейшем препарат на ее основе успешно завершил I и II фазы клинических испытаний, доказав свою безопасность и эффективность. В настоящий момент МИР 19<sup>®</sup> находится на III фазе клинических испытаний [61].

### 3.3. Малые активирующие РНК

Помимо уже перечисленных типов синтетических ON, нацеленных на снижение уровня экспрессии гена путем посттранскрипционного воздействия на мРНК, приводящего к ее деградации, использование механизма альтернативного сплайсинга или регуляцию трансляции, в литературе описываются малые активирующие РНК (saРНК, small activating RNA), представляющие собой отдельный класс некодирующих РНК, воздействие которых нацелено на определенные последовательности промоторов генов для их активации на транскрипционном уровне.

Структура saРНК аналогична структуре siРНК и состоит из двух РНК-цепочек длиной 21 нт, фланкированных двумя ДНК-нуклеотидами с 3'-конца, однако saРНК приводит к развитию противоположных биологических эффектов. В то время как siРНК вызывает деградацию мРНК путем образования RISC-комплекса в цитоплазме, приводя к снижению экспрессии генов, действие saРНК происходит в ядре и включает в себя индукцию промоторов целевых генов. С момента открытия явления активации РНК с помощью saРНК в 2006 г. [62] наблюдался значительный прогресс в направлениях дизайна синтетических РНК, понимания химии и природы saРНК, что

позволило использовать явление активации РНК в качестве терапевтического механизма. Первым препаратом на основе saРНК, допущенным для клинического применения, стал MTL-СЕВРА [63]. Разработанный компанией MiNA Therapeutics (США) препарат предназначен для специфического воздействия на эндогенный транскрипционный фактор С/ЕВР- $\alpha$  (CCAAT/enhancer-binding protein alpha), который поддерживает гомеостаз в тканях печени и препятствует онкогенезу, включая регуляцию клеточного цикла, пролиферативной активности и ангиогенеза. Помимо этого, СЕВРА влияет на процессы дифференцировки популяций иммунных клеток, циркулирующих в крови, а также воздействует на микроокружение опухолей. После того, как было показано увеличение уровня экспрессии мРНК СЕВРА в лейкоцитах после введения препарата пациентам, компания MiNA Therapeutics запланировала исследование эффективности препарата MTL-СЕВРА для лечения гепатоцеллюлярной карциномы, вызванной вирусом гепатита В и/или С (ClinicalTrials.gov: NCT04710641), а также терапии солидных злокачественных опухолей (ClinicalTrials.gov: NCT04105335). Препарат MTL-СЕВРА представляет собой липосомальную наночастицу SMARTICLES, содержащую дуплексную saРНК с 2'-ОМе-модификациями.

#### *3.4. CpG-олигонуклеотиды*

Для полноценного представления стратегий применения терапевтических ON необходимо описать механизмы их взаимодействия с мишенью, которые не основаны на образовании уотсон-криковских пар оснований. Такие ON могут связываться со специфическими рецепторами, которые распознают определенные CpG-мотивы (цитозин-фосфат-гуанозин), вызывая иммунный ответ. Свойство нуклеиновых кислот формировать трехмерные структуры посредством частичной комплементарности внутренних областей позволяет сорбироваться на поверхности таргетной белковой молекулы или клетки. Более того, изменение пространственной конформации молекулы ON может индуцировать ферментативную активность, направленную на расщепление, лигирование или фосфорилирование нуклеиновых кислот.

Короткие одноцепочные ON, содержащие неметилированные CpG-мотивы, в последние годы также привлекают большое внимание ученых [64–66] в качестве модуляторов иммунного ответа путем распознавания Toll-подобным рецептором 9 (TLR9) [67]. Неметилированные CpG-мотивы присутствуют в большом количестве в бактериальной и вирусной ДНК, в то время как в ДНК млекопитающих таких повторов значительно меньше. Было показано, что рецепторы TLR9 – сенсоры бактериальной ДНК – при их контакте с CpG-мотивами бактериальной ДНК рецепторы индуцируют процесс иммунного ответа подобно Th1-опосредованному механизму [68], активируя В-клетки и плазмоцитоидные дендритные клетки (пДК), приводя к пролиферации и дифференцировке этих клеток, секреции цитокинов и активации генов, участвующих в воспалительных реакциях [69–71]. Поэтому актуальным направлением стала разработка синтетических CpG-ON для использования в качестве адьювантов в составе вакцин [72, 73]. В настоящее время выделяют три класса CpG-ON в зависимости от типа активируемых ими иммунных клеток: А, В и С. CpG-ON класса А (например, ODN-2216) содержат один CpG-мотив и преимущественно индуцируют секрецию IFN- $\alpha$  из пДК [74]. CpG-ON класса В (например, CpG-7909, IMO-2055 и 1018-ISS) содержат несколько мотивов CpG и стимулируют активацию В-клеток и созревание пДК [75]. CpG-ON класса С (например, SD-101) сочетают в себе характеристики классов А и В, но могут индуцировать секрецию IL-12 из пДК [76]. CpG-ON проходят клинические испытания в качестве средства для монотерапии, а также как иммунотерапевтические адьюванты в сочетании с химио-, лучевой и таргетной терапией [77].

#### *3.5. Аптамеры*

Аптамеры нуклеиновых кислот относятся к классу терапевтических ON, которые характеризуются высокой аффинностью и специфичностью к мишени, обусловленными трехмерной структурой (малые молекулы, белки или нуклеиновые кислоты) (рис. 3) [78]. Они могут использоваться в терапевтических целях так же, как и моноклональные антитела. Однако в отличие от традиционных методов получения моноклональных антител, для селекции ON *in vitro* не требуется использование клеточных моделей, что дает

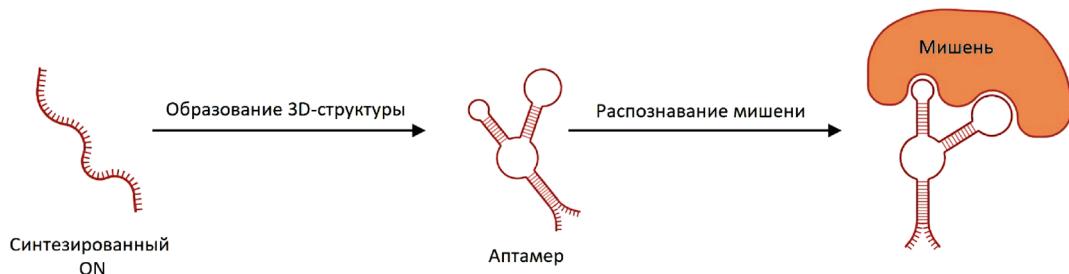


Рис. 3. Механизм распознавания мишени аптамером.

преимущество в управлении процессом. Более того, аптамеры представляют иные возможности по сравнению с другими терапевтическими препаратами на основе ON. Например, ASO или siРНК применяются для внутриклеточных терапевтических мишеней, в то время как аптамеры могут быть разработаны как для внутриклеточных, так и для внеклеточных или мишеней на поверхности клеток. Нацеливание на белки, относящиеся к двум последним классам, избавляет от необходимости преодолевать клеточную мембрану. Подобно моноклональным антителам [79], аптамеры могут быть использованы в терапии большинства заболеваний в случаях, когда требуется внеклеточная блокада белок-белковых взаимодействий.

Аптамеры к различным мишеням (РНК или белок) отбираются с помощью технологии SELEX (systematic evolution of ligands by exponential enrichment, систематическая эволюция лигандов при экспоненциальном обогащении) [80, 81] из пула синтетических ON. Принцип этого метода заключается в комбинаторном синтезе одноцепочечных последовательностей ON фиксированной длины и константными 5'- и 3'-участками, которые служат местами отжига праймеров, и последующей селекции тех последовательностей, которые наиболее прочно связываются с определенным лигандом. Связавшиеся с лигандом ON элюируют, амплифицируют с помощью ПЦР и отправляют на следующий цикл отбора с целью селекции молекулы с наибольшим сродством к лиганду. Такие ON применяются в качестве системы доставки химиотерапевтических препаратов, РНК-терапевтических средств и наночастиц, содержащих лекарственные средства, за счет высокой специфичности к таргетным структурам (рецепторам поверхности клеток) [82]. Аптамеры обладают характеристиками,

перспективными для применения в фармакологии, такими как высокая химическая и термическая стабильность в течение длительного срока хранения, благоприятный профиль безопасности. Дополнительное преимущество – возможность осуществлять наработку фармацевтических субстанций на основе аптамеров в сравнительно короткие сроки, сохраняя воспроизводимость и низкую себестоимость при масштабировании технологии производства. В отличие от моноклональных антител, их можно получать без использования живых систем (животных и их клеток) [83]. В настоящее время исследуется применение аптамеров при лечении злокачественных новообразований [84], ожирения [85], диабета [86], сердечно-сосудистых заболеваний [87], аутоиммунных заболеваний, заболеваниях скелета [88], в качестве антикоагулянтов [89], а также для терапии бактериальных и вирусных инфекций [90].

### 3.6. ДНКзимы

ДНКзимы (DNAzymes) – катализитически активные одноцепочечные ДНК-ОН, способные проявлять ферментативную активность и расщеплять РНК, лигировать и фосфорилировать ДНК и РНК [91, 92] подобно ферментам. ДНКзимы были впервые обнаружены Breaker и Joyce в 1994 г. [93]. Их открытие ознаменовало большой прорыв в терапии и биокатализе. На сегодняшний день не обнаружено ни одной последовательности ДНК с каталитической функцией, встречающейся в природе, а их генерация обеспечивается благодаря технологии SELEX. ДНКзимы, расщепляющие РНК, – наиболее полно изученный объект в исследованиях в области молекулярной онкологии из-за их способности подавлять экспрессию РНК [94].

ДНКзимы 10–23 и 8–17, полученные Santoro et al. в 1997 г. и направленные на расщепление РНК, наиболее глубоко изучены. Эти два ДНКзима могут разрушать практически любой РНК-субстрат в моделируемых физиологических условиях [95]. Повышенный интерес к изучению ДНКзимов в период их открытия был обусловлен перспективами применения за счет небольшой молекулярной массы, высокой стабильности, программируемости воздействия и сравнительно низкой стоимости. Применение ДНКзимов в качестве терапевтических средств перспективно в направлениях терапии злокачественных новообразований, сердечно-сосудистых заболеваний, бактериальных и вирусных инфекций и заболеваний центральной нервной системы, а также в качестве биосенсоров для обнаружения соответствующих мишенией в организмах [96–98]. Однако клиническое применение ДНКзимов ограничено, поскольку результаты исследований 2009–2014 гг. показали их низкую активность *in vivo*. Последнее клиническое исследование препарата на основе ДНКзима, предназначенногодля терапии атопического дерматита легкой и средней степени тяжести, завершилось после окончания II стадии в 2017 г. (ClinicalTrials.gov: NCT 02079688).

### *3.7. Ограничения и проблемы, связанные с применением терапевтических олигонуклеотидов*

При разработке терапевтического препарата на основе синтетических ON помимо их целевого действия стоит учитывать риски возникновения негативных эффектов, которые могут повлечь за собой вред организму. Серьезная проблема – это возможное развитие токсических проявлений, вызванных неспецифической активностью препаратов, действие которых основано на гибридизации нуклеотидных последовательностей. Для обеспечения наибольшего сродства к мишени подразумевается использование более длинных последовательностей ON, однако это может приводить к снижению специфичности, поскольку происходит увеличение вероятности неспецифической гибридизации фрагментов большей длины с нецелевыми участками нуклеиновых кислот, имеющими несколько несоответствий нуклеотидов (*mismatches*). Поэтому, например, была предложена оптимальная длина для siРНК,

которая составляет 21 п.н. [99, 100]. Интересно отметить, что модификации ON дополнительно влияют на степень неспецифической активности [101]. К сожалению, предсказать заранее возможные неспецифические эффекты, которые могут возникнуть в исследованиях *in vivo*, сложно. Их оценку можно проводить в моделях *in silico* с использованием баз данных, содержащих последовательности РНК или ДНК человека, а также с помощью анализа профиля экспрессии *in vitro* с использованием клеток человека [102].

Биоинформационный скрининг может позволить прогнозировать развитие побочных эффектов, что, в свою очередь, может значительно снизить риск развития токсических проявлений, вызванных ингибированием нецелевых последовательностей *in vivo*. Применение такого подхода на начальных этапах фармацевтической разработки может позволить получить лекарственные средства с более благоприятными профилями безопасности [103].

Другая причина развития специфической токсичности препаратов, которую надо учитывать при разработке, – возможная активация некоторыми ON системы врожденного иммунитета за счет связывания с TLR, что может приводить к развитию иммунотоксических эффектов и аллергических реакций.

Помимо ограничений, связанных с неспецифическим действием ON в составе кандидатского лекарственного средства *in vivo*, существуют ограничения применения ON, связанные с низкой стабильностью ON в физиологических условиях и сложностью их доставки к целевым тканям и органам. Для преодоления этих ограничений используются различные стратегии повышения стабильности ON и подбора средств доставки в ткани-мишени, например, химические модификации ON или биологические молекулы, что остается за рамками тематики данного обзора [104].

## 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За последние 30 лет было проведено множество исследований и приложены значительные усилия в направлении фармацевтической разработки средств на основе ON. За счет накопленного опыта к настоящему времени технологии производства ASO, siРНК и научные исследования, направленные

на разработку препаратов на их основе, вошли в рутинную практику. Многие клинические испытания представляют убедительные данные, демонстрирующие, что основная цель применения синтетических ON – контроль экспрессии генов *in vivo* – была достигнута.

Однако остаются не менее важные вопросы, связанные с разработкой терапевтических средств на основе ON. Стоит ли разрабатывать мультикомпонентные ON-системы для терапии заболеваний, которые невозможно вылечить с использованием стандартных подходов? Возможно ли с помощью существующих одобренных регулирующими органами разных стран препаратов излечить сотни тысяч (или даже миллионы) пациентов? Останется ли применение терапевтических стратегий на основе ASO и siPHK нишевым методом, оказывающим высокую эффективность в малочисленных группах пациентов с редкими заболеваниями? Появятся ли другие технологии применения терапевтических ON, которые смогут оказать более значительное влияние на развитие здравоохранения? Мы полагаем, что дальнейшие достижения в области химической модификации ON, средств доставки целевых молекул и понимания биологических процессов, при которых развиваются заболевания, помогут ответить на эти вопросы.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность аналитику лаборатории синтеза олигонуклеотидов и малых молекул ФГБУ “ЦСП” ФМБА России Е.А. Кириловой за работу с литературой при подготовке данной статьи и помочь в редактировании текста публикации.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов исследования.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### ВКЛАД АВТОРОВ

И.Б. Козлов – анализ и обобщение данных литературы, написание текста рукописи; О.А. Герасимов – сбор и систематизация данных; О.Ю. Домашева – сбор

и систематизация данных; Л.Г. Бушина – подготовка графического материала и таблиц, оформление рукописи; Л.А. Сафонова – редактирование текста статьи, оформление рукописи; В.В. Макаров – критический пересмотр текста рукописи; В.С. Юдин – общее руководство, утверждение текста статьи для публикации.

### ДОСТУПНОСТЬ ДАННЫХ

Данные, подтверждающие выводы настоящего исследования, можно получить у корреспондирующего автора по обоснованному запросу.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Watson J.D., Crick F.H.C. // Nature. 1953. V. 171. P. 737–738.  
<https://doi.org/10.1038/171737a0>
- Michelson A., Todd A. // J. Chem. Soc. Res. 1955. P. 2632–2638.  
<https://doi.org/10.1039/jr9550002632>
- Khorana H.G., Razzell W.E., Gilham P.T., Tener G.M., Pol E.H. // J. Am. Chem. Soc. 1957. V. 79. P. 1002–1003.  
<https://doi.org/10.1021/ja01561a065>
- Letsinger R.L., Ogilvie K.K. // J. Am. Chem. Soc. 1969. V. 91. P. 3350–3355.  
<https://doi.org/10.1021/ja01040a042>
- Letsinger R.L., Lunsford W.B. // J. Am. Chem. Soc. 1976. V. 98. P. 3655–3661.  
<https://doi.org/10.1021/ja00428a045>
- Beaucage S.L., Caruthers M.H. // Tetrahedron Lett. 1981. V. 22. P. 1859–1862.  
[https://doi.org/10.1016/s0040-4039\(01\)90461-7](https://doi.org/10.1016/s0040-4039(01)90461-7)
- McBride L.J., Caruthers M.H. // Tetrahedron Lett. 1983. V. 24. P. 245–248.  
[https://doi.org/10.1016/s0040-4039\(00\)81376-3](https://doi.org/10.1016/s0040-4039(00)81376-3)
- Hoover D.M., Lubkowski J. // Nucleic Acids Res. 2002. V. 30. P. e43.  
<https://doi.org/10.1093/nar/30.10.e43>
- Smith H.O., Hutchison C.A., Pfannkoch C., Venter J.C. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. P. 15440–15445.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.2237126100>
- Erlich H.A., Bugawan T.L. // In: PCR Technology / Ed. Erlich H.A. Palgrave Macmillan, London, 1989. P. 193–208.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-349-20235-5\\_16](https://doi.org/10.1007/978-1-349-20235-5_16)
- Schütze T., Wilhelm B., Greiner N., Braun H., Peter F., Mörl M., Erdmann V.A., Lehrach H., Konthur Z., Menger M. // Plos One. 2011. V. 6. P. e29604.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029604>

12. Grada A., Weinbrecht K. // *J. Invest. Dermatol.* 2013. V. 133. P. 1–4.  
<https://doi.org/10.1038/jid.2013.248>
13. Gnirke A., Melnikov A., Maguire J., Rogov P., LeProust E.M., Brockman W., Fennell T., Giannoukos G., Fisher S., Russ C. // *Nat. Biotechnol.* 2009. V. 27. P. 182–189.  
<https://doi.org/10.1038/nbt.1523>
14. Kelley M.L., Strezoska Ž., He K., Vermeulen A., Smith A. van B. // *J. Biotechnol.* 2016. V. 233. P. 74–83.  
<https://doi.org/10.1016/j.biote.2016.06.011>
15. Palumbo C.M., Gutierrez-Bujari J.M., O'Geen H., Segal D.J., Beal P.A. // *Chembiochem.* 2020. V. 21. P. 1633–1640.  
<https://doi.org/10.1002/cbic.201900736>
16. Lundin K.E., Gissberg O., Smith C.I.E. // *Hum. Gene Ther.* 2015. V. 26. P. 475–485.  
<https://doi.org/10.1089/hum.2015.070>
17. Shen X., Corey D.R. // *Nucleic Acids Res.* 2017. V. 46. P. 1584–1600.  
<https://doi.org/10.1093/nar/gkx1239>
18. Corey D.R. // *Nat. Neurosci.* 2017. V. 20. P. 497–499.  
<https://doi.org/10.1038/nn.4508>
19. Kijas J.M., Fowler J.C., Garbett C.A., Thomas M.R. // *Biotechniques.* 1994. V. 16. P. 656–660, 662.
20. Niemeyer C.M., Sano T., Smith C.L., Cantor C.R. // *Nucleic Acids Res.* 1994. V. 22. P. 5530–5539.  
<https://doi.org/10.1093/nar/22.25.5530>
21. Didenko V.V. // *Biotechniques.* 2001. V. 31. P. 1106–1121.  
<https://doi.org/10.2144/01315rv02>
22. Benizri S., Gissot A., Martin A., Vialet B., Grinstaff M.W., Barthélémy P. // *Bioconjug. Chem.* 2019. V. 30. P. 366–383.  
<https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.8b00761>
23. Provenzano M., Mocellin S. // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2007. V. 593. P. 66–73.  
[https://doi.org/10.1007/978-0-387-39978-2\\_7](https://doi.org/10.1007/978-0-387-39978-2_7)
24. Brannagan T.H., Berk J.L., Gillmore J.D., Maurer M.S., Waddington-Cruz M., Fontana M., Masri A., Obici L., Brambatti M., Baker B.F. // *J. Peripher. Nerv. Syst.* 2022. V. 27. P. 228–237.  
<https://doi.org/10.1111/jns.12519>
25. Manoharan M., Tivel K.L., Andrade L.K., Mohan V., Condon T.P., Bennett C.F., and Cook P.D. // *Nucleosides Nucleotides.* 1995. V. 14. P. 969–973.  
<https://doi.org/10.1080/15257779508012513>
26. Nishina T., Numata J., Nishina K., Yoshida-Tanaka K., Nitta K., Piao W., Iwata R., Ito S., Kuwahara H., Wada T. // *Mol. Ther. Nucleic Acids.* 2015. V. 4. P. e220.  
<https://doi.org/10.1038/mtna.2014.72>
27. Otero-Carrasco B., Romero-Brufau S., Álvarez-Pérez A., Ayuso-Muñoz A., Prieto-Santamaría L., Hernández J.P.C.-V., Rodríguez-González A. // *bioRxiv.* 2023.  
<https://doi.org/10.1101/2023.05.03.539318>
28. Melnikova I. // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2012. V. 11. P. 267–268.  
<https://doi.org/10.1038/nrd3654>
29. Перечень редких (орфанных) заболеваний // Министерство здравоохранения Российской Федерации. 2024.  
<https://minzdrav.gov.ru/documents/9818-perechen-redkih-orfannyh-zabolevaniy>
30. Li Z., Rana T.M. // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2014. V. 13. P. 622–638.  
<https://doi.org/10.1038/nrd4359>
31. Akimoto S., Suzuki J., Aoyama N., Ikeuchi R., Watanabe H., Tsujimoto H., Wakayama K., Kummagai H., Ikeda Y., Akazawa H. // *Int. Hear. J.* 2018. V. 59. P. 1134–1141.  
<https://doi.org/10.1536/ihj.17-632>
32. Abaturov A.Ye., Volosovets A.P., Yulish Ye.I. // Здоровье ребенка. 2014. № 6(57). С. 131–136.  
<https://doi.org/10.22141/2224-0551.6.57.2014.75743>
33. Nakamura H., Oda Y., Iwai S., Inoue H., Ohtsuka E., Kanaya S., Kimura S., Katsuda C., Katayanagi K., Morikawa K. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991. V. 88. P. 11535–11539.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.88.24.11535>
34. Vickers T.A., Crooke S.T. // *Nucleic Acids Res.* 2015. V. 43. P. 8955–8963.  
<https://doi.org/10.1093/nar/gkv920>
35. Roehr B. // *J. Int. Assoc. Physicians AIDS Care.* 1998. V. 4. P. 14–16.
36. Hoy S.M. // *Drugs.* 2017. V. 77. P. 473–479.  
<https://doi.org/10.1007/s40265-017-0711-7>
37. Ottesen E.W. // *Transl. Neurosci.* 2017. V. 8. P. 1–6.  
<https://doi.org/10.1515/tnsci-2017-0001>
38. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2024.  
<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2024/advanced-information/>
39. Ho P.T.B., Clark I.M., Le L.T.T. // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. P. 7167.  
<https://doi.org/10.3390/ijms23137167>
40. Krützfeldt J., Rajewsky N., Braich R., Rajeev K.G., Tuschl T., Manoharan M., Stoffel M. // *Nature.* 2005. V. 438. P. 685–689.  
<https://doi.org/10.1038/nature04303>
41. Gallant-Behm C.L., Piper J., Lynch J.M., Seto A.G., Hong S.J., Mustoe T.A., Maari C., Pestano L.A., Dalby C.M., Jackson A.L. // *J. Investig. Dermatol.* 2019. V. 139. P. 1073–1081.  
<https://doi.org/10.1016/j.jid.2018.11.007>

42. *Woolf T.M., Chase J.M., Stinchcomb D.T.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995. V. 92. P. 8298–8302.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.92.18.8298>
43. *Qu L., Yi Z., Zhu S., Wang C., Cao Z., Zhou Z., Yuan P., Yu Y., Tian F., Liu Z.* // Nat. Biotechnol. 2019. V. 37. P. 1059–1069.  
<https://doi.org/10.1038/s41587-019-0178-z>
44. *Merkle T., Merz S., Reautschning P., Blaha A., Li Q., Vogel P., Wetten gel J., Li J.B., Stafforst T.* // Nat. Biotechnol. 2019. V. 37. P. 133–138.  
<https://doi.org/10.1038/s41587-019-0013-6>
45. *Doherty E.E., Beal P.A.* // Mol. Ther. 2022. V. 30. P. 2117–2119.  
<https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2022.04.005>
46. *Aquino-Jarquin G.* // Mol. Ther. Nucleic Acids. 2020. V. 19. P. 1065–1072.  
<https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.12.042>
47. *Fire A., Xu S., Montgomery M.K., Kostas S.A., Driver S.E., Mello C.C.* // Nature. 1998. V. 391. P. 806–811.  
<https://doi.org/10.1038/35888>
48. *Elbashir S.M., Harborth J., Lendeckel W., Yalcin A., Weber K., Tuschl T.* // Nature. 2001. V. 411. P. 494–498.  
<https://doi.org/10.1038/35078107>
49. *Leuschner P.J.F., Ameres S.L., Kueng S., Martinez J.* // EMBO Rep. 2006. V. 7. P. 314–320.  
<https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400637>
50. *Martinez J., Patkaniowska A., Urlaub H., Lührmann R., Tuschl T.* // Cell. 2002. V. 110. P. 563–574.  
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)00908-x](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)00908-x)
51. *Iwakawa H., Tomari Y.* // Mol. Cell. 2022. V. 82. P. 30–43.  
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.11.026>
52. *Meister G.* // Nat. Rev. Genet. 2013. V. 14. P. 447–459.  
<https://doi.org/10.1038/nrg3462>
53. *Meister G., Landthaler M., Patkaniowska A., Dorsett Y., Teng G., Tuschl T.* // Mol. Cell. 2004. V. 15. P. 185–197.  
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2004.07.007>
54. *Sheu-Gruttaduria J., Pawlica P., Klum S.M., Wang S., Yario T.A., Oakdale N.T.S., Steitz J.A., MacRae I.J.* // Mol. Cell. 2019. V. 75. P. 1243–1255.e7.  
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.06.019>
55. *Raja M.A.G., Katas H., Amjad M.W.* // Asian J. Pharm. Sci. 2019. V. 14. P. 497–510.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajps.2018.12.005>
56. *Lee S.H., Kang Y.Y., Jang H.-E., Mok H.* // Adv. Drug Deliv. Rev. 2016. V. 104. P. 78–92.  
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.10.009>
57. *Subhan M.A., Torchilin V.* // Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med. 2020. V. 29. P. 102239.  
<https://doi.org/10.1016/j.nano.2020.102239>
58. *Hoy S.M.* // Drugs. 2018. V. 78. P. 1625–1631.  
<https://doi.org/10.1007/s40265-018-0983-6>
59. *Scott L.J.* // Drugs. 2020. V. 80. P. 335–339.  
<https://doi.org/10.1007/s40265-020-01269-0>
60. *Khaitov M., Nikonova A., Shilovskiy I., Kozhikhova K., Kofiadi I., Vishnyakova L., Nikolskii A., Gattinger P., Kovchina V., Barvinskaia E.* // Allergy. 2021. V. 76. P. 2840–2854.  
<https://doi.org/10.1111/all.14850>
61. *Khaitov M., Nikonova A., Kofiadi I., Shilovskiy I., Smirnov V., Elisytina O., Maerle A., Shatilov A., Shatilova A., Andreev S.* // Allergy. 2023. V. 78. P. 1639–1653.  
<https://doi.org/10.1111/all.15663>
62. *Long-Cheng Li, Okino S.T., Zhao H., Pookot D., Place R.F., Urakami S., Enokida H., Dahiya R.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. V. 103. P. 17337–17342.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0607015103>
63. *Sarker D., Plummer R., Meyer T., Sodergren M.H., Basu B., Chee C.E., Huang K.-W., Palmer D.H., Ma Y.T., Evans T.R.J.* // Clin. Cancer Res. 2020. V. 26. P. 3936–3946.  
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-20-0414>
64. *Hanagata N.* // Int. J. Nanomed. 2017. V. 12. P. 515–531.  
<https://doi.org/10.2147/ijn.s114477>
65. *Hanagata N., Li X., Min-Hua Chen, Li J., Hattori S.* // Int. J. Nanomed. 2017. V. 13. P. 43–62.  
<https://doi.org/10.2147/ijn.s152141>
66. *Yu W., Sun J., Liu F., Yu S., Xu Z., Wang F., Liu X.* // ACS Appl. Mater. Interfaces. 2020. V. 12. P. 17167–17176.  
<https://doi.org/10.1021/acsami.9b21075>
67. *Urban-Wojciek Z., Khan M.M., Oyler B.L., Fähræus R., Marek-Trzonkowska N., Nita-Lazar A., Hupp T.R., Goodlett D.R.* // Front. Immunol. 2019. V. 10. P. 2388.  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02388>
68. *Hemmi H., Takeuchi O., Kawai T., Kaisho T., Sato S., Sanjo H., Matsumoto M., Hoshino K., Wagner H., Takeda K.* // Nature. 2000. V. 408. P. 740–745.  
<https://doi.org/10.1038/35047123>
69. *Vollmer J., Krieg A.M.* // Adv. Drug Deliv. Rev. 2009. V. 61. P. 195–204.  
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2008.12.008>

70. Kang T.H., Mao C.-P., Kim Y.S., Kim T.W., Yang A., Lam B., Tseng S.-H., Farmer E., Park Y.-M., Hung C.-F. // *J. Immunother. Cancer*. 2019. V. 7. P. 260.  
<https://doi.org/10.1186/s40425-019-0738-2>
71. Hager S., Fittler F.J., Wagner E., Bros M. // *Cells*. 2020. V. 9. P. 2061.  
<https://doi.org/10.3390/cells9092061>
72. Klinman D.M. // *Nat. Rev. Immunol.* 2004. V. 4. P. 249–259.  
<https://doi.org/10.1038/nri1329>
73. Shirota H., Klinman D.M. // *Expert Rev. Vaccines*. 2014. V. 13. P. 299–312.  
<https://doi.org/10.1586/14760584.2014.863715>
74. Krug A., Rothenfusser S., Hornung V., Jahrsdörfer B., Blackwell S., Ballas Z.K., Endres S., Krieg A.M., Hartmann G. // *Eur. J. Immunol.* 2001. V. 31. P. 2154–2163.  
[https://doi.org/10.1002/1521-4141\(200107\)31:7<2154::aid-immu2154>3.0.co;2-u](https://doi.org/10.1002/1521-4141(200107)31:7<2154::aid-immu2154>3.0.co;2-u)
75. Krieg A.M., Yi A.-K., Matson S., Waldschmidt T.J., Bishop G.A., Teasdale R., Koretzky G.A., Klinman D.M. // *Nature*. 1995. V. 374. P. 546–549.  
<https://doi.org/10.1038/374546a0>
76. Nehete P.N., Williams L.E., Chitta S., Nehete B.P., Patel A.G., Ramani M.D., Wisniewski T., Scholtzova H. // *Front. Aging Neurosci.* 2020. V. 12. P. 36.  
<https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00036>
77. Bode C., Zhao G., Steinhagen F., Kinjo T., Klinman D.M. // *Expert Rev. Vaccines*. 2011. V. 10. P. 499–511.  
<https://doi.org/10.1586/erv.10.174>
78. Sun H., Zhu X., Lu P.Y., Rosato R.R., Tan W., Zu Y. // *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2014. V. 3. P. e182.  
<https://doi.org/10.1038/mtna.2014.32>
79. Nissim A., Chernajovsky Y. // *Handb. Exp. Pharmacol.* 2008. V. 181. P. 3–18.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-540-73259-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-540-73259-4_1)
80. Tuerk C., Gold L. // *Science*. 1990. V. 249. P. 505–510.  
<https://doi.org/10.1126/science.2200121>
81. Ellington A.D., Szostak J.W. // *Nature*. 1990. V. 346. P. 818–822.  
<https://doi.org/10.1038/346818a0>
82. Sheng L., Rigo F., Bennett C.F., Krainer A.R., Hua Y. // *Nucleic Acids Res.* 2020. V. 48. P. 2853–2865.  
<https://doi.org/10.1093/nar/gkaa126>
83. Michaud M., Jourdan E., Villet A., Ravel A., Grosset C., Peyrin E. // *J. Am. Chem. Soc.* 2003. V. 125. P. 8672–8679.  
<https://doi.org/10.1021/ja034483t>
84. Gao F., Yin J., Chen Y., Guo C., Hu H., Su J. // *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2022. V. 10. P. 972933.  
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.972933>
85. Chen X., He X., Gao R., Lan X., Zhu L., Chen K., Hu Y., Huang K., Xu W. // *ACS Nano*. 2022. V. 16. P. 1036–1050.  
<https://doi.org/10.1021/acsnano.1c08690>
86. Tan K.X., Jeevanandam J., Pan S., Yon L.S., Danquah M.K. // *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 2020. V. 57. P. 101764.  
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101764>
87. Mauro V.D., Lauta F.C., Modica J., Appleton S.L., Franciscis V.D., Catalucci D. // *JACC Basic Transl. Sci.* 2023. V. 9. P. 260–277.  
<https://doi.org/10.1016/j.jacbtbs.2023.06.013>
88. Liu X., Hu J., Ning Y., Xu H., Cai H., Yang A., Shi Z., Li Z. // *Cell Transplant.* 2023. V. 32. P. 1–11.  
<https://doi.org/10.1177/09636897221144949>
89. Troisi R., Riccardi C., Carvasal K.P., de Smietana M., Morvan F., Vecchio P.D., Montesarchio D., Sica F. // *Mol. Ther. Nucleic Acids*. 2022. V. 30. P. 585–594.  
<https://doi.org/10.1016/j.omtn.2022.11.007>
90. Chen X.-F., Zhao X., Yang Z. // *J. Med. Chem.* 2021. V. 64. P. 17601–17626.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01567>
91. Morrow P.K., Murthy R.K., Ensor J.D., Gordon G.S., Margolin K.A., Elias A.D., Urba W.J., Weng D.E., Rugo H.S., Hortobagyi G.N. // *Cancer*. 2012. V. 118. P. 4098–4104.  
<https://doi.org/10.1002/cncr.26730>
92. Silverman S.K. // *Org. Biomol. Chem.* 2004. V. 2. P. 2701–2706.  
<https://doi.org/10.1039/b411910j>
93. Breaker R.R., Joyce G.F. // *Chem. Biol.* 1994. V. 1. P. 223–229.  
[https://doi.org/10.1016/1074-5521\(94\)90014-0](https://doi.org/10.1016/1074-5521(94)90014-0)
94. Huo W., Li X., Wang B., Zhang H., Zhang J., Yang X., Jin Y. // *Biophys. Rep.* 2020. V. 6. P. 256–265.  
<https://doi.org/10.1007/s41048-020-00123-w>
95. Santoro S.W., Joyce G.F. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. V. 94. P. 4262–4266.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.94.9.4262>
96. McConnell E.M., Cozma I., Mou Q., Brennan J.D., Lu Y., Li Y. // *Chem. Soc. Rev.* 2021. V. 50. P. 8954–8994.  
<https://doi.org/10.1039/d1cs00240f>
97. Ma L., Liu J. // *iScience*. 2020. V. 23. P. 100815.  
<https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.100815>
98. Fredj Z., Singh B., Bahri M., Qin P., Sawan M. // *Chemosensors*. 2023. V. 11. P. 388.  
<https://doi.org/10.3390/chemosensors11070388>
99. Nedorezova D.D., Dubovichenko M.V., Belyaeva E.P., Grigorieva E.D., Peresadina A.V., Kolpashchikov D.M. // *Theranostics*. 2022. V. 12. P. 7132–7157.  
<https://doi.org/10.7150/thno.77830>

100. Nedorezova D.D., Dubovichenko M.V., Kalnin A.J., Nour M.A.Y., Eldeeb A.A., Ashmarova A.I., Kurbanov G.F., Kolpashchikov D.M. // ChemBioChem. 2024. V. 25. P. e202300637. <https://doi.org/10.1002/cbic.202300637>
101. Scharner J., Ma W.K., Zhang Q., Lin K.-T., Rigo F., Bennett C.F., Krainer A.R. // Nucleic Acids Res. 2019. V. 48. P. 802–816. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz1132>
102. Yoshida T., Naito Y., Yasuhara H., Sasaki K., Kawaji H., Kawai J., Naito M., Okuda H., Obika S., Inoue T. // Genes Cells. 2019. V. 24. P. 827–835. <https://doi.org/10.1111/gtc.12730>
103. Michel S., Schirduan K., Shen Y., Klar R., Tost J., Jaschinski F. // Mol. Diagn. Ther. 2021. V. 25. P. 77–85. <https://doi.org/10.1007/s40291-020-00504-4>
104. Thakur S., Sinhari A., Jain P., Jadhav H.R. // Front. Pharmacol. 2022. V. 13. P. 1006304. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1006304>
105. Zhang X. // Front. Mol. Neurosci. 2024. V. 17. P. 1412964. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2024.1412964>
106. Roehr B. // AIDS Treat. N. 1998. V. 7. P. 14–16.
107. Fine S.L., Martin D.F., Kirkpatrick P. // Nat. Rev. Drug Discov. 2005. V. 4. P. 187–188. <https://doi.org/10.1038/nrd1677>
108. Hair P., Cameron F., McKeage K. // Drugs. 2013. V. 73. P. 487–493. <https://doi.org/10.1007/s40265-013-0042-2>
109. Syed Y.Y. // Drugs. 2016. V. 76. P. 1699–1704. <https://doi.org/10.1007/s40265-016-0657-1>
110. Splawn L.M., Bailey C.A., Medina J.P., Cho J.C. // Drugs Today. 2018. V. 54. P. 399–405. <https://doi.org/10.1358/dot.2018.54.7.2833984>
111. Keam S.J. // Drugs. 2018. V. 78. P. 1371–1376. <https://doi.org/10.1007/s40265-018-0968-5>
112. Paik J., Duggan S. // Drugs. 2019. V. 79. P. 1349–1354. <https://doi.org/10.1007/s40265-019-01168-z>
113. Heo Y.-A. // Drugs. 2020. V. 80. P. 329–333. <https://doi.org/10.1007/s40265-020-01267-2>
114. Dhillon S. // Drugs. 2020. V. 80. P. 1027–1031. <https://doi.org/10.1007/s40265-020-01339-3>
115. Scott L.J., Keam S.J. // Drugs. 2021. V. 81. P. 277–282. <https://doi.org/10.1007/s40265-020-01463-0>
116. Lamb Y.N. // Drugs. 2021. V. 81. P. 389–395. <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01473-6>
117. Shirley M. // Drugs. 2021. V. 81. P. 875–879. <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01512-2>
118. Keam S.J. // Drugs. 2022. V. 82. P. 1419–1425. <https://doi.org/10.1007/s40265-022-01765-5>
119. Blair H.A. // Drugs. 2023. V. 83. P. 1039–1043. <https://doi.org/10.1007/s40265-023-01904-6>

# Gene Therapy Drugs Based on Synthetic Oligonucleotides

I. B. Kozlov\*, #, O. A. Gerasimov\*, O. Y. Domasheva\*, L. G. Bushina\*, L. A. Safonova\*, V. V. Makarov\*, and V. S. Yudin\*

# Phone: +7 (495) 540-61-71 (\*4558); e-mail: IKozlov@cspfmba.ru

\* Federal State Budgetary Institution “Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks”  
of the Federal Medical and Biological Agency,  
ul. Pogodinskaya 10/1, Moscow, 119121 Russia

The development of medicines, the structure of which resembles or is completely identical to the natural components of a living organism, is currently a promising and of great interest among scientists. The invention of a synthetic analog of nucleic acids was carried out due to the active development of oligonucleotide synthesis in the 1980s and subsequent research in the field of chemical modification of the nucleotide, which made it possible to change the properties of nucleic acids and increase their stability. The accumulated world experience has made it possible to create medicines based on synthetic oligonucleotides aimed at the treatment of rare genetic diseases. Since 1998, a relatively small number of drugs have been approved by regulatory authorities in different countries for use in clinical practice. Most of them are aimed at the treatment of orphan diseases. To date, there are 20 therapeutic drugs based on synthetic oligonucleotides that have been approved by medical regulatory authorities for use in clinical practice. Of this list, only one drug was developed in Russia (MIR 19®). This review describes all drugs based on synthetic oligonucleotides approved for 2024, and also examines and systematizes current knowledge about promising types of therapeutic oligonucleotides with different mechanisms of interaction with the target.

*Keywords:* gene-therapeutic drugs, therapeutic oligonucleotides, siRNA, ASO, CpG-oligonucleotides